

ÜBER DIE BESTIMMUNG UND DIE GRÖSSE
DES EXTRAZELLULÄRRAUMES
VON MEERSCHWEINCHENVORHÖFEN

VON

HORST BAUER

1964

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Johannes Gutenberg - Universität Mainz
Direktor: Prof. Dr. med. G. Kuschinsky

ÜBER DIE BESTIMMUNG UND DIE GRÖSSE
DES EXTRAZELLULÄRRAUMES
VON MEERSCHWEINCHENVORHÖFEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

HORST BAUER

aus

Magdeburg



MAINZ 1961

Referent: Priv. Doz. Dr. H. Lüllmann

Korreferent: Prof. Dr. G. Kuschinsky

Dekan: Prof. Dr. Dr. K. Lang

Tag der mündlichen Prüfung: 20. November 1961

GESAMTHERSTELLUNG:

DITTERS BÜRODIENST, MAINZ, Augustinerstraße 64-66

MEINEN ELTERN

Über die Größe des Extrazellulärtraumes (EZR) am Herzen liegen einige Angaben vor (BARCLAY, HAMLEY und HOUGHTON; GOODFORD und LÜLLMANN; PAGE und SOLOMON; RAYNER und WEATHERALL).

Am Meerschweinchenvorhof sind entsprechende Untersuchungen bisher nur von GOODFORD und LÜLLMANN gemacht worden. Im Zusammenhang mit Untersuchungen über Ionenkonzentrationen und Ionenaustausch zwischen intrazellulärem und extrazellulärem Raum, wie sie in diesem Institut speziell am Meerschweinchenvorhof zur Zeit durchgeführt werden, ist es jedoch notwendig, die Größe des EZR genau zu kennen. Auch läßt sich über die Größe des Intrazellulärtraumes (IZR) bei Kenntnis des Gesamtraumes unter vergleichbaren Bedingungen erst etwas aussagen, wenn man den EZR kennt.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es deshalb, die Größe des EZR zu bestimmen.

METHODIK

Es wurden unbehandelte Meerschweinchen beiderlei Geschlechts im Gewicht zwischen 400 und 830 Gramm verwendet, wobei streng darauf geachtet wurde, daß die weiblichen Tiere nicht gravide waren; denn während der Schwangerschaft könnte die Größe des EZR verändert sein.

Die Bestimmung des EZR wurde mit Hilfe der Inulin-Methode nach HIGASHI und PETERS durchgeführt. Um auszuschließen, daß der Aufenthalt des isolierten Herzgewebes in physiologischer Salzlösung die Größe des EZR beeinflusst, wurden neben den in vivo-Versuchen Messungen an isolierten Vorhöfen vorgenommen.

Zur Durchführung der in vitro-Versuche wurden die Tiere durch Genickschlag getötet, ausgeblutet, die Herzen schnell entnommen und die Vorhöfe in einer mit einem O₂-CO₂-Gemisch durchperlten Tyrodelösung isoliert. Dabei hatte die Tyrodelösung folgende Zusammensetzung: 8,0 g NaCl; 0,2 g KCl; 0,2 g CaCl₂; 0,1 g MgCl₂; 1,0 g NaHCO₃; 0,0648 g NaH₂PO₄; 1,0 g Glucose; Aqua dest. ad 1000,0.

Die Vorhöfe wurden anschließend in einem Organbad in sauerstoffgesättigter Tyrodelösung, die 150 mg% Inulin enthielt, bei konstanter Temperatur von 30° C 1 Stunde lang gehalten. Bei drei Versuchen wurde zwei Stunden lang äquilibriert, um eine Kontrolle darüber zu haben, ob ein Badaufenthalt von

einer Stunde voll ausreicht, um den Muskel in ein Diffusionsgleichgewicht bezüglich des Inulin zu setzen.

Den in vitro-Bestimmungen lag folgende Versuchsanordnung zugrunde: Aus einer Mariotte'schen Flasche gelangte die mit Inulin versetzte Tyrodelösung über einen Tropfenzähler in das Organbad, wurde dort mit Sauerstoff gesättigt, und durch eine Kapillare wurde sie mittels einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt, so daß ein ständiger Zu- und Abstrom statthatte. Um eine Kontrolle darüber zu bekommen, daß der Vorhof während der Äquilibrierungszeit intakt war und 150 mg% Inulin nicht schadeten, wurde jeweils das Mechanogramm aufgeschrieben. Kurz vor Herausnahme des Vorhofs aus dem Organbad wurde der Tyrodelösung noch eine Probe entnommen, um darin den Inulingehalt zu bestimmen und später zur Vorhofkonzentration in Beziehung setzen zu können. Nach genau einer Stunde, in drei Versuchen nach zwei Stunden, wurde der Vorhof aus dem Bad herausgenommen, einmal kurz in bereitgestellte Tyrode ohne Inulinzusatz getaucht und sogleich 1,5 Minuten zwischen 2 Blauband-Filterpapieren unter ca. 50 g Belastung gelegt, um ihn so von anhaftender Flüssigkeit zu befreien. Nach ROZEK war die Zeit bekannt, die dazu notwendig war, ohne Gefahr zu laufen, dem Vorhofgewebe etwa Flüssigkeit zu entziehen, wodurch dessen Inulingehalt hätte verändert werden können.

Von den Vorhöfen wurde dann anschließend je ein Extrakt hergestellt, indem sie mit Seesand feucht zerrieben wurden. Die chemische Aufarbeitung zur Bestimmung des Inulingehaltes erfolgte nach der auf Seite 3 genannten Methode.

Zur Durchführung der in vivo-Bestimmungen wurden die Meerschweinchen beidseitig nephrektomiert. Die Eingriffe wurden zum Teil in Äthernarkose, teilweise unter Na-Äthyl-(1-methyl-butyl)-thiobarbiturat (1) und drittens in Na-Äthyl-(1-methyl-butyl)-thiobarbituratnarkose, die mit Äther zur einer Vollnarkose vertieft wurde, vorgenommen, um zu sehen, ob evtl. die Art der Narkose den EZR etwa verändert. 10 - 15 Minuten nach Beendigung des Eingriffs wurden den Tieren 3,0 ml, bei leichteren Tieren um 500 g Körpergewicht 2,0 ml einer 15%igen Inulinlösung von 35° C in die linke Vorderbeinvene injiziert. Zwei Stunden post injectionem wurden die Tiere in Äthernarkose getötet, indem die vorher freipräparierten und angeschlungenen Carotiden durch-

(1) Der Firma Promonta wird für die Überlassung von Versuchsmengen Tripanal gedankt.

rissen und das ausströmende Blut in einem Schälchen unter ständigem Schütteln aufgefangen wurde. Zwecks Verhinderung der Blutgerinnung waren den Schälchen 100 I.E. Heparin zugesetzt worden. Es wurde besonderer Wert darauf gelegt, daß die Tiere und damit die Herzen gut ausbluteten. Sodann wurde das Herz gleich entnommen und aufgearbeitet. Der Vorhof wurde diesmal jedoch trocken präpariert, da keine Inulin-haltige Tyrodelösung dem Gewebe anhaftete.

Nach der Präparation wurde der Vorhof jeweils nur 1,5 Minuten zwischen 2 Filtrierpapiere (Blauband) gelegt, wie für die in vitro-Versuche bereits beschrieben. Von den so erhaltenen Präparaten wurden wiederum Extrakte hergestellt und darin der Inulingehalt bestimmt.

Zur Bestimmung der Inulinkonzentration im Plasma wurde das mit Heparin ungerinnbar gemachte Blut in Zentrifugengläschen überführt und 5 Minuten zentrifugiert. 0,1 ml Plasma wurden dann jeweils in ein anderes Zentrifugengläschen gegeben, mit Trichloressigsäure enteiweißt und nochmals zentrifugiert. Weiterhin wurde darin der Inulingehalt bestimmt wie im Falle der Muskelextrakte.

INULINBESTIMMUNG IM MUSKEL UND PLASMA NACH HIGASHI u. PETERS

Prinzip der Methode:

Inulin-haltiges Plasma oder verdünnter Harn, aus denen vorher mit 10%iger Trichloressigsäurelösung das Protein gefällt wurde, werden mit einer Lösung von Resorcin in Alkohol versetzt.

Unter Kühlung mit Eiswasser wird anschließend konzentrierte FeCl_3 -HCl-Lösung dazugegeben.

Durch Einstellen der Reaktionslösungen in ein Wasserbad von $79 - 79,5^\circ \text{C}$ für 20 Minuten entwickelt sich ein gleichmäßiger orangeroter Farbstoff. Nach rascher Kühlung in Eiswasser auf 20°C bleibt die Farbe etwa 4 Stunden lang konstant.

Die Farbintensität dieser Lösungen wird colorimetrisch bestimmt.

Reagenzien:

- 1) Inulin-Standardlösungen: 100 mg Inulin wurden unter leichtem Erwärmen in 100 ml Aqua dest. gelöst und daraus eine Verdünnungsreihe hergestellt.

- 2) 10%ige Trichloressigsäure
- 3) 0,15%ige Lösung von Resorcin p.a. in unvergälltem Alkohol (Alcohol aethylicus absolutus p.a.)
- 4) HCl-FeCl₃-Lösung, indem 7,5 mg Ferrichlorid in 1 Liter konzentrierter Salzsäure (HCl) gelöst werden.

Praktische Durchführung:

Der Vorhof wurde in einem Wägeschälchen, dessen Leergewicht vorher in einer halbautomatischen Analysenwaage genau bestimmt war, gewogen und sein Gewicht berechnet, indem das Leergewicht des Schälchens in Abzug gebracht wurde. In einem Mörser wurde er dann mit Seesand ganz fein mit dem 10-fachen seines Gewichtes mit Wasser zerrieben. Allerdings wurde das Wasser nicht auf einmal zugesetzt, sondern zum Teil dazu benutzt, den Extrakt auch völlig aus dem Mörser in das Zentrifugengläschen überzuspülen. Dann wurde in gewissen Abständen mehrmals gut durchgeschüttelt und zugewartet, bis sich der Seesand abgesetzt hatte. Von dem Überstehenden wurden 0,5 ml Extrakt in ein zweites Zentrifugengläschen abpipettiert und 2,5 ml kalte 10%ige Trichloressigsäurelösung dazugegeben. Es wurde dann kräftig durchgeschüttelt und 10 Minuten zentrifugiert. Von dem Überstehenden wurden 2,0 ml in ein Reagenzglas abpipettiert und 3,0 ml Resorcinlösung dazugegeben. Sodann wurden die Reagenzgläser in Eiswasser gestellt und mit 3,0 ml HCl-FeCl₃-Lösung versetzt. Nach Zugabe zu dem letzten Reagenzglas wurde 30 Sekunden gewartet, ehe die Proben nach vorherigem kräftigem Durchschütteln (wichtig!) in das Wasserbad eingebracht wurden. Es wurden immer jeweils drei Proben in Eiswasser gestellt und 3,0 ml der HCl-FeCl₃-Lösung dazugegeben. Der Aufenthalt der Proben im Wasserbad währte genau 20 Minuten bei einer Temperatur von 79,0 - 79,5° C, wobei genau darauf geachtet wurde, daß bei der hydrolytischen Aufspaltung des Inulin die Temperatur und der Zeitfaktor konstant gehalten wurden. 20 Minuten nach Eintauchen wurden auch wieder jeweils drei Proben auf einmal dem Wasserbad entnommen und wiederum in Eiswasser eingebracht, um sie auf ungefähr 20° C abzukühlen. Falls man die Proben stärker abkühlt, tritt Trübung auf, die bei Raumtemperatur nicht verschwindet. Ungefähr 5 - 10 Minuten nach Herausnahme des letzten orangefarbenen Farbansatzes aus dem Eiswasser wurde die Farbintensität der so erhaltenen Lösungen mit Hilfe eines Photometers (Elko III der Firma Carl Zeiss) im Ausschlagsverfahren bestimmt. Es wurde das Filter S 49 E (1) gewählt, denn

(1) $\lambda_{\max} = 494 \text{ m}\mu$.

die mit diesem Filter erhaltenen Eichkurven stiegen in einem Winkel von etwa 45° an. Die Filter S 53 E und S 55 E zum Beispiel ergaben eine geringere Ausbeute und damit einen flacheren Verlauf der Eichkurven. Aus der Überlegung heraus, daß eine steilere Eichkurve genauere Ablesungen gestattet, wurde das Filter S 49 E für die Versuche beibehalten. Die Schichtdicke der Küvetten betrug 0,500 cm. Bei jeder Versuchsreihe lief der chemische Leerwert mit, der chemisch genauso behandelt wurde wie die eigentlichen Proben. Bei jeder Versuchsreihe in vitro wurden auch von der gleichen Anzahl Meerschweinchen die Leerwerte des Vorhofs mitbestimmt und der Mittelwert daraus von den erhaltenen Inulinwerten abgezogen. Jeden Tag wurde eine Eichkurve angefertigt, da sich die Eichkurven nie ganz zur Deckung bringen lassen. In vivo kamen 7 Leerwerte auf 10 Versuche. Das Frischgewicht des Vorhofs wurde dem Volumen gleichgesetzt, da das spezifische Gewicht des Vorhofs nur unwesentlich von 1 abweichen dürfte. CREESE und KLAUS et al. geben für das Rattenzwerchfell einen Wert von 1,055 bzw. 1,07 an.

ERRECHNUNG DES EXTRAZELLULÄRRUAUMES AUS DER INULINKONZENTRATION

Man geht dabei aus von der Annahme, daß die Substanz sich nur im EZR aufhält (GAUDINO und LEVITT; McLENNAN; REIN-SCHNEIDER) und sich nach einer bestimmten Zeit ein Gleichgewicht eingestellt hat.

z. B. 150 mg% Inulin in der Tyrode- lösung	150 mg% Inulin im EZR des Vorhofs, dessen prozentualer Anteil am Gesamtorgan ermittelt werden soll.
---	--

Durch das Zerreiben des Organs verteilen sich diese 150 mg% Inulin auf den Gesamtraum und im Endergebnis wird man im Muskel < 150 mg% Inulin finden. Bei einem EZR von ungefähr 30% wären das dann nur noch etwa 50 mg% Inulin im Muskel.

Wenn man diese 50 mg% Inulin in Beziehung setzt zur Inulinkonzentration der Tyrodelösung, erhält man den EZR in Prozent.

Beispiel für eine Bestimmung in vitro:

Gewicht des Vorhofs: 0,1698 g, die mit 1,53 ml Aqua dest. zerrieben werden.

Davon	0,5 ml Extrakt genommen
	+ <u>2,5 ml</u> CCl_3COOH dazugegeben
	= 3,0 ml $\longrightarrow$ zentrifugiert
vom Überstehenden	2,0 ml entnommen
	+ 3,0 ml Resorcinlösung dazugegeben
	$\longrightarrow$ in Eiswasser
	+ <u>3,0 ml</u> $\text{FeCl}_3\text{-HCl-Lösung}$
	= 8,0 ml
	=====

Anschließend wurde dieser Ansatz bei $79,0 - 79,5^\circ \text{C}$ im Wasserbad gehalten, nach 20 Minuten herausgenommen und auf ungefähr 20°C abgekühlt.

Die Farbintensität dieser Lösung wurde dann im Filterphotometer bestimmt.

Beispiel für eine Eichkurve:

auf der Durchlaßgradskala

0-Wert	-----	100,0
0,5 mg% Inulinlösung	-----	91,8
1,5 mg% Inulinlösung	-----	78,0
2,5 mg% Inulinlösung	-----	66,3
3,5 mg% Inulinlösung	-----	57,5
8,0 mg% Inulinlösung	-----	29,2
10,0 mg% Inulinlösung	-----	21,0

Werte der Muskelextrakte + Inulin:

- | | |
|----|------|
| a) | 83,8 |
| b) | 81,5 |

Muskelleerwerte:

93,5	
96,8	$\Longrightarrow$ 95,15 (Mittelwert)

Dieser mittlere Leerwert wurde nun von den Meßergebnissen für die mit Inulin vorbehandelten Vorhöfe abgezogen, die dazugehörige Inulinkonzentration auf der Eichkurve abgelesen und das den Muskelpräparaten hinzugegebene Flüssigkeitsvolumen wieder herausgerechnet. Auf diese Weise läßt sich für den Muskel

im Falle "a)" eine Inulinkonzentration von 42,0 mg% errechnen. Wenn man diesen Wert zur Inulinkonzentration der Tyrodelösung (150 mg%) in Beziehung setzt, ergibt sich für den EZR ein Wert von 28%.

Für die Bestimmung *in vivo* wurden

1) 0,5 ml Muskelextrakt gewählt und
versetzt mit $+ 2,5 \text{ ml } \text{CCl}_3\text{COOH}$
 $= 3,0 \text{ ml} \longrightarrow$ zentrifugiert.

Die weitere chemische Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben.

2) wurden
0,1 ml Plasma
versetzt mit 0,4 ml Aqua dest.
 $+ 2,5 \text{ ml } \text{CCl}_3\text{COOH}$
 $= 3,0 \text{ ml} \longrightarrow$ zentrifugiert

und ebenfalls ausgearbeitet wie oben beschrieben.

Die Inulinkonzentrationen, die sich für den Vorhof ergaben, wurden diesmal zur Plasmainulinkonzentration in Beziehung gesetzt und daraus der EZR berechnet. Vorher wurde noch von der Plasmainulinkonzentration der Plasmaerwert abgezogen und eine Eiweißkorrektur angebracht; denn das Plasma hat einen relativ hohen Eiweißgehalt, so daß der Lösungsraum für das Inulin kleiner wird. Das Gesamteiweiß des Meerschweinchens wird mit 5,4 g / 100 ml Serum angegeben (SPECTOR). Danach wird die Plasmakonzentration an Inulin um einen Faktor von 1,06 (1,05819) größer.

VERSUCHSERGEBNISSE

Bestimmung des Extrazellulärraumes

Die Tabelle 1 gibt die Werte wieder, wie sie sich aus den Versuchen für den EZR ergeben haben, ferner die Inulinplasmakonzentrationen und die Leerwerte für Vorhof und Plasma.

Es wurde sowohl für die *in vitro*-Experimente als auch die *in vivo*-Untersuchungen jeweils der Mittelwert aller Versuchsergebnisse und die mittlere Streuung der Versuchswerte errechnet (SNEDECOR). Tabelle 2 gibt diese Ergebnisse wieder.

Ferner wurde ein Vergleich beider Mittelwerte durchgeführt (BROWNLEE), um die Ergebnisse statistisch zu sichern. Die Wahrscheinlichkeit eines Unterschiedes ist mittels P-Wert angegeben.

Aus 17 Versuchen in vitro wurde für den EZR ein Mittelwert von 31,1 % und aus 10 Versuchen in vivo ein Mittelwert von 31,0 % gefunden.

STATISTISCHE AUSWERTUNG

I. Mittelwerte und mittlere Streuung

1. der in vitro-Bestimmungen:

$$\sum X = 529,20$$

$$\sum X^2 = 16654,08$$

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n} \quad (\text{Mittelwert})$$

$$\bar{X} = \frac{529,2}{17} = 31,13 \%$$

=====

$$\sum x^2 = \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n} \quad (\text{Summe der Abweichungsquadrate})$$

$$s^2 = \frac{\sum x^2}{n - 1} \quad (\text{Varianz})$$

$$s = \sqrt{s^2} \quad (\text{Standardabweichung})$$

$$s_{\bar{X}} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (\text{Standardabweichung der Mittelwerte})$$

$$\bar{X} \pm s_{\bar{X}}$$

$$\sum X^2 = 16654,08$$

$$\sum x^2 = 16654,08 - 16473,68$$

$$\sum x^2 = 179,40$$

$$s^2 = \frac{179,40}{16}$$

$$s = \sqrt{11,21} = 3,348$$

$$s_{\bar{X}} = \frac{3,348}{\sqrt{17}} = \frac{3,348}{4,123} = 0,81$$

$$\bar{X} \pm s_{\bar{X}} = 31,13 \pm 0,81$$

=====

2. der in vivo-Bestimmungen:

$$\sum X = 310,4$$

$$\sum X^2 = 9745,02$$

$$n = 10$$

$$\bar{x} = \frac{310,4}{10} = 31,04 \%$$

=====

$$\sum x^2 = 9745,02 - 9634,816 = 110,204$$

$$s^2 = \frac{110,204}{9} = 12,24$$

$$s = \sqrt{12,24} = 3,5$$

$$s_{\bar{x}} = \frac{3,5}{\sqrt{10}} = \frac{3,5}{3,162} = 1,10689$$

$$\underline{s_{\bar{x}} = 1,11}$$

$$\underline{\bar{x} + s_{\bar{x}} = 31,04 + 1,11 \%$$

=====

II. Vergleich zweier Mittelwerte:

$$s^2_{\text{diff.}} = \frac{\sum x^2_1 + \sum x^2_2}{n_1 + n_2 - 2}$$

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_{\text{diff.}}} \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}}$$

t $\longrightarrow$ nachgesehen in t-Tabelle

$$n_1 = 17$$

Freiheitsgrad $\underline{n_1 + n_2 - 2}$

$$n_2 = 10$$

$$s^2_{\text{diff.}} = \frac{179,40 + 110,204}{25} = 7,6$$

$$t = \frac{31,13 - 31,04}{2,76} \sqrt{\frac{170}{27}}$$

$$t = \frac{0,09}{2,76} \sqrt{\frac{170}{27}}$$

$$t = 0,036 \sqrt{6,3}$$

$$t = 0,036 \cdot 2,51$$

$$t = 0,09036$$

$$\text{Freiheitsgrad} = 25$$

=====

$$P \gg 0,1$$

=====

Der P-Wert ist also sehr viel größer als 0,1. Daher sind beide Werte nicht signifikant voneinander unterschieden.

DISKUSSION DER VERSUCHSERGEBNISSE

Die Übereinstimmung der Resultate in vitro und in vivo läßt den Schluß zu, daß in den zwei Stunden nach der Nephrektomie der EZR keine wesentliche Änderung erfahren hat. Unwahrscheinlich ist es, daß beide Methoden den EZR in gleicher Weise verändern.

Tabelle 3 gibt eine Zusammenstellung der bisher von verschiedenen Autoren am Herzen durchgeführten Untersuchungen bezüglich der Größe des EZR wieder. Danach wird der EZR für den Vorhof verschiedener Tierarten zwischen 23 und 44 ml/100 g Frischgewicht angegeben. Die Ergebnisse der vorliegenden Bestimmungen liegen mit 31% in der Mitte zwischen diesen beiden extremen Werten, zeigen eine Übereinstimmung nur mit den von GOODFORD und LÜLLMANN am Meerschweinchenvorhof gefundenen Werten.

Für das Vorliegen unterschiedlicher Werte lassen sich allgemein folgende Grundsätze anführen:

1. kann der EZR für den Vorhof je nach Tierart durchaus verschieden sein,
2. kann die angewandte Methode einen Unterschied in der Größe des EZR ausmachen.
3. Methodische Einzelheiten.

So z. B. haben GOODFORD und LÜLLMANN für die *Taenia coli* des Meerschweinchens gezeigt, daß unterschiedliche Methoden zur Entfernung der anhängenden Inulin-haltigen Tyrodelösung bedeutsam sind. Auch wird die Größe des EZR von der Äquilibrationdauer abhängen. Ist diese zu

in vitro		in vivo			
Inulin - Methode		Inulin- Methode			
mittlere Leerwerte in mg%	EZR in %	Leerwerte des Vorhofs in mg%	Plasma- Leerwerte in mg%	Plasma- Inulinkonzentration in mg%	EZR in %
16,8	28,0 33,7	27,0	3,0	257,0	36,5
13,8	32,9 32,9 31,7	18,0	1,5	267,0 284,6	26,4 31,7
16,0	35,6 35,6 25,7	21,0	4,5	298,92 391,14	36,1 33,0
9,6	36,0 28,0 33,7	28,5	3,75	217,04	31,7
18,0	30,0 28,0 26,0	28,5	1,5	303,69	29,6
18,0	31,7 28,0 31,7	24,0	4,5	298,92 338,67	27,9 27,0
		9,0	2,25	345,83	30,5
	31,1 (Mittelwert)				31,0 (Mittelwert)

Tabelle 2

Mittelwerte für die Größe des Extrazellulärraumes
mit mittlerer Abweichung vom Mittelwert ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$). n = Anzahl der Versuche.

		Inulinmethode in vitro		Inulinmethode in vivo
	n	EZR in % des Frischgewichtes	n	EZR in % des Frischgewichtes
Meerschweinchen- Vorhöfe	17	31,1 $\pm$ 0,8	10	31,0 $\pm$ 1,1

Tabelle 3 Zusammenstellung der in der Literatur berichteten Extrazellulärräume

Autor	Versuchstier	Organ	Methode	EZR in ml/100 g F. G.
BARCLAY, J. A. ; HAMLEY, E. J. und HOUGHTON, H.	Ratte	re. Vorhof li. Vorhof re. Kammer li. Kammer	Inulin, perfundiert nach der Methode von Langendorff	24, 8 + 2, 7 21, 3 + 2, 5 15, 1 + 0, 8 9, 1 + 1, 5
GOODFORD, P. J. und LÜLLMANN, H.	Meerschwein- chen	li. Vorhof (in Ruhe) re. Vorhof (spontan schlagend) gesamter Vorhof	Äthylsulfonat-S ³⁵	(5% Wahrscheinlichkeitsbereich) 26, 9 (19, 6 - 34, 1) 25, 3 (17, 6 - 33, 0) 26, 2 (21, 3 - 31, 1)
PAGE, E. und SOLOMON, A. K.	Katze	Papillarmuskel	Inulin	27 - 28° C 24 + 1; 1 h inkubiert (Tyrodebad), 26 + 1; 2 h inkubiert (Tyrodebad) 28 + 1; 3 h inkubiert (Tyrodebad) 37 - 38° C 25 + 2; 1 h inkubiert 29 + 1; 2 h inkubiert
RAYNER, B. und WEATHERALL, M.	Kaninchen	Vorhof	Inulin-Methode nach BACON und BELL	44, 1
WADDELL, W. J. und HARDMAN, H. F.	Schildkröte	Herz	Inulin-Carboxyl-C ¹⁴	23, 0 und 24, 0 ⁺ + = Bestimmung an 2 Herzen

gering, dann kann der Vorhof nicht genügend Inulin aufnehmen. Ist diese zu groß, dann besteht die Frage, ob nicht doch infolge Erstickung des Gewebes und Zellschädigung Inulin in den EZR übertreten kann.

4. mag der EZR von hormonellen oder pathophysiologischen Zuständen beeinflusst werden.

Es können bei Verwendung des Inulin auch Irrtümer entstehen, wenn das zu untersuchende Gewebe selbst Fructose enthält oder über Fermente verfügt, die in der Lage sind, Inulin zu Fructose zu hydrolysieren. Ferner ließe sich der Einwand machen, daß es sich im Falle des Inulin um große Moleküle handelt, die eventuell gar nicht bis in die entlegensten Spalten des EZR vordringen können. Diese theoretischen Überlegungen sind jedoch weitgehend dadurch entkräftet, daß mit Äthylsulfonat- S^{35} derselbe EZR gefunden wurde wie mit Inulin.

ZUSAMMENFASSUNG

Es sollte die Frage geklärt werden, wie groß der Extrazellulärraum des Vorhofs vom Meerschweinchen ist. Zu diesem Zweck ist der Inulin-Raum zunächst in vitro, dann aber auch in vivo bestimmt worden. Die chemische Aufarbeitung der Proben basiert auf der nach HIGASHI und PETERS 1950 angegebenen Methode.

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse ergab für den Meerschweinchenvorhof in vitro einen Mittelwert von $31,1 \pm 0,8 \%$, in vivo von $31,0 \pm 1,1 \%$.

LITERATUR

BARCLAY, J. A., E. J. HAMLEY und H. HOUGHTON:

The Inulin, sucrose, chloride and sodium space of the isolated perfused rat heart. *J. Physiol.* 149, 15 P 1959.

BARCLAY, J. A., E. J. HAMLEY und H. HOUGHTON:

Electrolyte content of rat heart atria and ventricles.

Circulation Research 8, 1264, 1960.

BROWNEE, K. A. :

Industrial Experimentation; Fourth Edition, S. 34, London 1949, Reprinted 1956.

CREESE, R. :

Measurement of cation fluxes in rat diaphragm.

Proc. Roy. Soc. B. 142, 497, 1954.

GAUDINO, M. und M. F. LEVITT:

Inulin space as a measure of extracellular fluid. *Amer. J. Physiol.* 157, 387, 1949. *Zit. nach Ber. ges. Physiol. u. Pharmakol.* 142, 276, 1951.

GOODFORD, P. J. und H. LÜLLMANN:

The uptake of ethane sulfonate - S^{35} ions by muscular tissue.

J. Physiol. (London) 1961 (im Druck).

HIGASHI, A. und L. PETERS:

A rapid colorimetric method for the determination of inulin in plasma and urine. *J. Labor. and Clin. Med.* 35, 475, 1950.

KLAUS, W., H. LÜLLMANN und E. MUSCHOLL:

Der Kalium-Flux des normalen und denervierten Rattenzwerchfells.

Pflügers Archiv 271, 761, 1960.

McLENNAN, H. :

The diffusion of potassium, inulin and thiocyanate in the extracellular spaces of mammalian muscle. *Biochim. et Biophys. Acta* 21, 472, 1956.

PAGE, E. und A. K. SOLOMON:

Cat heart muscle in vitro. I. Cell volumes and intracellular concentrations in papillary muscle. *J. gen. Physiol.* 44, 327, 1960.

RAYNER, B. und M. WEATHERALL:

Digoxin, ouabain and potassium movements in rabbit auricles.

Brit. J. Pharmacol. and Chemother. 12, 371, 1957.

REIN, H. :

Einführung in die ^Physiologie des Menschen. Hrsg. von M. SCHNEIDER, 11. Auflage, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1955, S. 264.

ROZEK, H. :

Über das Verhalten des Extrazellulärtraumes von Rattenzwerchfellen nach Denervation. Inaug.-Diss., Mainz 1959.

SNEDECOR, G. W. :

Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology.
Fourth Edition, 1950.

SPECTOR, W. S. :

Handbook of Biological Data.

S. 53, published by Saunders Company, Philadelphia and London, 1956.

WADDELL, W. J. und H. F. HARDMAN:

Intracellular pH of isolated perfused turtle heart. Amer. J. Physiol. 199,
1112, 1960.

LEBENS LAUF

Am 27. Juni 1934 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Fritz Bauer und seiner Ehefrau Gerda, geb. Bosse, in Magdeburg/Elbe geboren. Dort besuchte ich nacheinander die Volks- und die Oberschule und unterzog mich am 10. Juni 1953 der Reifeprüfung.

Mit dem Wintersemester 1954 begann ich an der Universität Mainz Medizin zu studieren und legte nach dem Sommersemester 1960 die Ärztliche Prüfung ab.

